



TITLE:

がん病態のインビボ評価のための 光分子イメージングプローブの開 発に関する研究(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

尾江, 悟

CITATION:

尾江, 悟. がん病態のインビボ評価のための光分子イメージングプローブの開発に関する研究. 京都大学, 2015, 博士(薬科学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18920>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は
2016/03/22に公開; 許諾条件により本文は2016-10-01に公開

(続紙 1)

| | | | |
|---|---------------------------------------|----|------|
| 京都大学 | 博士（薬科学） | 氏名 | 尾江 悟 |
| 論文題目 | がん病態のインビボ評価のための光分子イメージングプローブの開発に関する研究 | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>がんは死因の第 1 位であり、がん病態の非侵襲的診断法の開発が臨床分野で強く求められている。一方、光分子イメージング法（蛍光分子イメージング法（OI）、光音響分子イメージング法（PAI））は、他の臨床画像診断法に比べ、簡便・安全で特別な施設を必要とせず汎用性が高いため、がん診断への利用が注目されている。ここで、OI・PAI は生体組織透過性の観点から近赤外光領域に吸収、励起、蛍光波長を有する分子プローブを用いるが、両者の測定原理が異なることから、それぞれに適した分子プローブの開発が必要となる。すなわち OI では蛍光性分子プローブを用いることにより細胞・切片レベルから比較的浅部の個体レベルまでシームレスな病態評価が可能であることから、がんの悪性度の指標となる光分子プローブの開発が求められる。一方、PAI では分子プローブ周囲に存在する溶媒の断熱膨張に起因する光音響信号を取得することから、本質的にはインビボでのがんの非侵襲的検出を目的とした物理的安定性の高い光分子プローブの開発が必要となる。</p> <p>そこで本研究では、光分子イメージング法によるがんの非侵襲的診断法の開発を目的として、OI および PAI のそれぞれに適した光分子イメージングプローブの開発を計画した。</p> | | | |
| 第 1 章 インビボ蛍光イメージングによるがんの悪性度診断を目的とする近赤外蛍光分子プローブの開発 | | | |
| <p>多くのがん細胞においてミトコンドリアは DNA 変異や酸化ストレスに起因する過分極状態が形成されており、これらのミトコンドリアの機能不全はがんの形成や進行に関与することが報告されていることから、ミトコンドリアの過分極状態を認識する蛍光性分子プローブはがんの悪性度評価に有効であることが期待される。このミトコンドリア膜電位を標的とした蛍光性分子プローブには①近赤外光領域における励起・蛍光能、②π電子共役系を有する脂溶性のカチオン分子、③効率的ながん組織への送達性が求められる。そこで、本プローブの開発にあたり、シアニン系化合物である IC7-1 に着目した。すなわち、IC7-1 は蛍光団に第 4 級アンモニウム、また側鎖にカルボキシル基を有する脂溶性中性分子であるため、分光学的影響が小さいと考えられる側鎖部分を誘導化し、カチオン化することを検討した。また、血漿中アルブミンに対する親和性の付与は Enhanced Permeability and Retention 効果によるがん組織への効率的なプローブ送達に有効であると考え、IC7-1 の側鎖部分を長さの異なるアルキル鎖とした IC7-1 誘導体を設計・合成し、その有効性を調べた。その結果、いずれの IC7-</p> | | | |

1 誘導体も近赤外光領域に励起・蛍光極大波長を有したが、中でもブチル基を側鎖部分に導入した IC7-1-Bu は、細胞内局在、膜電位変化に対する感受性、アルブミンに対する結合親和性の観点から、最も有効であることが期待された。実際、担がんマウスに IC7-1 誘導体を尾静脈内投与して OI を実施したところ、移植がん部位の蛍光強度は IC7-1-Bu の場合に最も高くなり、さらに、移植がん部位における蛍光強度はアルブミン結合阻害剤または脱分極剤を投与することにより減少することを認めた。以上より、IC7-1-Bu はがん細胞におけるミトコンドリアの過分極状態を認識し、がんの悪性度評価に有効な蛍光性分子プローブとなる可能性が示された。

第2章 インビボ光音響イメージングによるがんの悪性度診断を目的とする光安定化型色素プローブの開発

PAI は OI に比べ強度の強い光を長時間照射することにより数 cm 程度の比較的体深部の観察が可能である利点を有する。この PAI によるがんの非侵襲的検出を目的とした光音響用分子プローブには①近赤外光領域における吸収能、②高い光音響量子効率（低い蛍光量子収率）、③効率的ながん組織への送達性、に加え、④強い励起光照射に耐え得る物理的安定性が求められる。一方、励起三重項状態の蛍光色素のエネルギーの一部は一重項酸素生成の原因となり、蛍光色素の分解を惹起する。したがって、励起三重項状態の消失機序の付与は、物理的安定性の高い光分子プローブの開発に有効であると考えられる。そこで、第1章で開発した IC7-1-Bu が PAI プローブの要件①～③を満たすことに着目し、IC7-1-Bu の片側側鎖に長さの異なるリンカーを用いて励起三重項状態クエンチャー（TSQ）作用を有することが報告されている 4-nitrobenzyl amine（NBA）を導入した IC-T 誘導体を設計・合成し、その有効性を調べた。その結果、いずれの IC-T 誘導体も近赤外光領域の吸収極大波長と低い蛍光量子収率を示し、IC7-1-Bu に比べ高い光安定性を示した。中でも oxohexyl 基を介して NBA を導入した IC-5-T は、アルブミンに対する結合親和性、担がんマウスにおける体内動態の観点から、最も有効であることが期待された。そこで、担がんマウスに IC-5-T を尾静脈内投与し、投与 1、2 日後に PAI を実施したところ、移植がん部位に光音響信号を認め、さらに IC-5-T の場合、移植がん部位における投与 1 日後に対する投与 2 日後の光音響信号の減少率が IC7-1-Bu の場合に比べ小さく、TSQ 導入が光安定化に有効であることが示された。以上より、IC-5-T は一定の物理的安定性を示し、がんの非侵襲的検出に有効な光音響用分子プローブとなる可能性が示された。

以上、本研究は、がん病態のインビボ評価のための光分子イメージングプローブの開発に基礎的な成果を収めたものであり、これらの知見は、今後のがんの生化学・分子生物学における基礎研究および質的画像診断において有益な情報を提供するものと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

光分子イメージング法（蛍光分子イメージング法（OI）、光音響分子イメージング法（PAI））は、他の臨床画像診断法に比べ、簡便・安全で特別な施設を必要とせず汎用性が高いため、がん診断への利用が注目されている。この OI・PAI には、生体組織透過性の観点から近赤外光領域に吸収、励起、蛍光波長を有する蛍光色素を基本として、それぞれに適した分子プローブが必要となる。そこで本論文では、光分子イメージング法によるがんの非侵襲的診断法の開発を目的として、OI および PAI のそれぞれに適した光分子イメージングプローブの開発を計画したものである。

著者は、まず、インビボ蛍光イメージングによるがんの悪性度診断を目的とする近赤外蛍光分子プローブの開発を目的として、ミトコンドリアの機能不全ががんの形成や進行に関与することに着目して、ミトコンドリアの過分極状態を認識する蛍光性分子プローブの設計を計画した。そのために、シアニン系色素 IC7-1 に着目し、過分極状態のミトコンドリアへの取込みの促進を期待するカチオン化、Enhanced Permeability and Retention 効果によるがん組織への効率的なプローブ送達に有効なアルブミンへの結合を期待できるアルキル鎖の導入のそれぞれを行い、その効果を調べた。その結果、細胞内局在、膜電位変化に対する感受性、アルブミンに対する結合親和性の観点から、ブチル基を側鎖部分に導入した IC7-1-Bu が最も有効性が期待された。さらに、本化合物の担がんマウスでの OI で、移植がん部位の明瞭な描出とアルブミン結合阻害剤、脱分極剤の投与によるその部位での蛍光強度の減少を認めた。以上より、IC7-1-Bu はがんの悪性度評価に有効な蛍光性分子プローブとなる可能性を見出した。

また、体深部のイメージングを可能とする PAI に有効ながんイメージングプローブの開発を目的として、近赤外光領域における吸収能を有する IC7-1-Bu に着目し、それに OI に比べてかなり強い励起光照射に耐え得る光安定性を与えるべく、その光不安定性の原因と考えられる三重項状態のクエンチング作用を有する 4-nitrobenzyl amine

(NBA) を、リンカーを介して、その分子中に導入した IC-T 誘導体を設計・合成し、その有効性を調べた。リンカーの長さを変化させて検討した結果、oxohexyl 基を介して NBA を導入した IC-5-T が、がん組織への送達に有効なアルブミンに対する結合親和性、担がんマウスにおける体内動態の観点から、最も有効であることが期待された。さらに、IC-5-T を担がんマウスに投与し、PAI を実施したところ、移植がん部位のイメージングに成功するとともに、その光音響信号の継時的な減少率が小さく、光安定性を有することを認めた。以上より、IC-5-T ががんの光音響イメージングに有効な分子プローブとなる可能性を見出した。

以上、本研究は、がん病態のインビボ評価のための光分子イメージングプローブの開発に基礎的な成果を収めたものであり、これらの知見は、今後のがんの生化学・分子生物学における基礎研究および質的画像診断において有益な情報を提供するも

のと考えられる。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年2月25日、論文内容とそれに関連した事項について諮問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当分の間当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 年 月 日以降